Aus dem Pharmakologischen Institut
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster / Westf.
Direktor: Prof. Dr. med. et phil. H. Freund.

Ueber die Einwirkung verschiedener Neutralsalze der Hofmeister'schen Reihe auf diastatische Fermente.

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der zahnmedizinschen Doktorwürde der Hohen Medizinischen Fakultät der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster / Westf.

vorgelegt von

Otto Folsche, Zahnarzt

aus Ledde Krs. Tecklenburg

1935

Druckausführung Buchdruckerei Franz Grube, Werne a. d. Lippe

Dekan: Professor Dr. Klinge.

Referent: Privatdozent Dr. med. et phil. W. Haarmann.

Korreferent: Professor Dr. med. et phil. H. Freund.

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster (Westf.)

Ueber die Einwirkung verschiedener Neutralsalze der Hofmeister'schen Reihe auf diastatische Fermente.

Im Schrifttum sind zahlreiche Untersuchungen über Diastasen und deren Beeinflussung durch Neutralsalze beschrieben worden. Man sollte daher erwarten, daß Arbeiten hierüber wenig lohnend wären. Vergleicht man jedoch die vorliegenden Befunde, so ersieht man, daß viele Fragen noch ungeklärt sind. Die Ursache dürfte hierfür sein, daß die Versuchsanordnungen der einzelnen Autoren sehr verschieden sind. Als Maß für die Größe des Stärkeabbaus verwendeten die meisten Autoren die von Wohlgemuth[1]) angegebene Jodreaktion, die das Ende der Dextrinbildung anzeigt. Es wird hier die Veränderung des Ausgangsmaterials und nicht die Menge der gebildeten Spaltprodukte bestimmt. Aus physiologischen Gründen interessiert nur wieviel Zucker (Maltose) gebildet wird, nicht aber wie groß die Menge der Dextrine, mithin der Stärkeabbau selbst ist. Die Dextrinbildung ist häufig gesteigert, die Zuckerbildung aber gehemmt, sodaß die Jodreaktion ein falsches Bild von der Stärkeverwertbarkeit geben muß. Nur wenige Autoren benutzen als Maß der Stärkeabspaltung die Zuckerbildung. Das umfangreiche Schrifttum soll später bei der Besprechung der Versuchsergebnisse behandelt werden, weil sonst Wiederholungen unvermeidlich sind.

Die Bestimmung der Maltose wurde auf jodometrischem Wege nach Willstätter und Schudel[2]) vorgenommen. (Vergleiche hierzu auch Hoppe-Seyler-Tierfelder[3]).) 1 ccm n/10 Jod entspricht 17,1 mg Maltose. Die Versuchsanordnung ist bei Haack[4]) genau beschrieben.

---

[1]) Wohlgemuth: Biochem. Z. 9, 1, 1908.
[2]) Willstätter und Schudel: Ber. d. chem. Ges. 51, 87, 1918.
[3]) Hoppe-Seyler-Tierfelder: Handb. d. physiol., pathol. und chem. Analyse, Springer Berlin 1924, 9. Aufl., S. 634.
[4]) Haack: Inaugural-Dissertation, Münster, 1935.

Das Gesamtvolumen der Versuchsansätze betrug 25 ccm, der Gehalt an löslicher Stärke 1 %. Die Konzentration der Fermente ist jeweils bei den Versuchen angegeben und in den Tabellen vermerkt.

Untersucht wurde die Wirkung einer Reihe von Neutralsalzen in gleichen osmotischen Konzentrationen. Es handelt sich hier um Salze, die Franz Hofmeister[5]) neben anderen Salzen für seine Untersuchungen über das Verhalten bestimmter Gele gegenüber Wasser und bestimmten Salzen verwandte. Er arbeitete mit Gelatine und stellte fest, daß ihre Quellung von den Salzen verschieden stark beeinflußt wird; ferner, daß die Salze nach ihrer Wirkung auf Kolloide in zwei Gruppen eingeteilt werden können, in solche, die die Quellung begünstigen und solche, die sie hemmen. Die Glieder der beiden Reihen üben eine quantitativ verschiedene Wirkung aus; besonders die Anionen verändern die Wasseraufnahme in Gegenwart von Salzen. Quellend wirken Jodid > als Chlorid, entquellend Sulfat > Tartrat > Acetat. Sehr stark wirksam sind Säuren und Alkalien. Sie steigern bereits in geringer Menge die Quellbarkeit der Kolloide. Neutralsalze vermindern die Quellung in saurer und alkalischer Lösung sehr stark. Für diese Wirkung ergibt sich die folgende Reihe: Tartrat > Phosphat > Sulfat > Acetat > Jodid > Chlorid. Der Einfluß jedes Salzes auf die Quellung steigt zunächst mit seiner Menge an, erreicht ein Maximum und nimmt dann wieder ab. Die quellende und entquellende Wirkung der Salze ist oft für die Erklärung von Fermentwirkungen herangezogen worden. Durch die Quellung wird die Oberfläche der Kolloide und, da die Fermente kolloider Natur sind, auch die Oberfläche der Fermente vergrößert, durch Entquellung verkleinert. Die fördernde bzw. hemmende Wirkung von Salzen wird auf eine Vergrößerung respektive Verkleinerung der Gesamtoberfläche der kolloidalen Fermentlösung zurückgeführt. Ist, wie in unserem Fall, auch das Substrat (Stärke) kolloid, so wird es auch in seinem Verteilungszustand verändert. Es war die Aufgabe der vorliegenden Arbeit, die Einwirkung von einigen Neutralsalzen auf die Zuckerbildung aus Stärke durch einige diastatische Fermente zu untersuchen. Geprüft wurden folgende Salze: 1. Natriumsulfat, 2. Natriumacetat, 3. Natriumtartrat, 4. Natriumchlorid, 5. Natriumjodid in gleichen osmotischen Konzentrationen.

In der vorliegenden Arbeit sind unter isotonen Lösungen solche zu verstehen, die die gleiche Gefrierpunktserniedrigung

[5]) Hofmeister: Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 28, 210, 1891.

wie die Salze des Blutserums ergeben, also den Gefrierpunkt um 0,56° erniedrigen. Vierfach isotone Lösungen bewirken dementsprechend eine Gefrierpunktserniedrigung von $4 \cdot 0{,}56 = 2{,}24°$. Unter isoton verstehen wir also immer isosmotisch mit der sog. physiologischen Kochsalzlösung.

Versuchsserie I.

In Tabelle 1 und 2 sind die an der Speicheldiastase gewonnenen Ergebnisse zusammengestellt. Tabelle 1 behandelt die Einwirkung der Neutralsalze auf die Stärkeverzuckerung, Tabelle 2 den gleichzeitigen Einfluß von primärem (ph = 4,5) bzw. sekundärem (ph = 8,3) Phosphat und den Neutralsalzen. Die Konzentration des Speichels betrug 1 : 100, die Versuchsdauer 2 Stunden, die Versuchstemperatur 18 °.

Wie aus den Versuchen hervorgeht, wird die Wirksamkeit der Speicheldiastase durch Neutralsalze (Tabelle 1) nicht gesteigert, sondern in allen Fällen mit ansteigender Konzentration herabgesetzt. Die einzelnen Salze sind in isosmotischer Lösung nicht gleichwertig. Fast unwirksam ist Natriumtartrat und Natriumsulfat, und wenig stärker wirkt Nariumchlorid. Besonders stark hemmend wirkt das Phosphat (ph = 7,0). Die Hemmungen betragen hier in vierfach isotoner Lösung bis zu 90 %. Gleichfalls starke Hemmungen beobachten wir auch bei Natriumacetat und Natriumjodid. In isotoner Lösung sind nur Sulfat, Tartrat und Chlorid ohne Einfluß auf die Stärkeverzuckerung. Hemmungen von ca. 20 % sehen wir beim Acetat und Jodid, während beim Phosphat die Hemmungen bis zu 70 % ausmachen. Die Salze sind in isosmotischen Lösungen also nicht als gleichwertg anzusehen.

Die beschriebenen Versuche wurden bei einem Säuregrad durchgeführt, der den Neutralpunkt (ph = 7,0) entspricht. Das Wirkungsbild ändert sich von Grund auf, wenn die Neutralsalze in saurem oder alkalischem Milieu auf die Diastase einwirken (Tabelle 2). Mit wachsender Alkalität nimmt die diastatische Kraft des Speichels ab und zwar stärker als mit ansteigender saurer Reaktion. Die Alkalischädigung ist größer als die Säureschädigung. Dies Verhalten tritt in unseren Versuchen deutlich in Erscheinung. Die Versuche mit primärem und sekundärem Phosphat wurden 2 Std. bei Zimmertemperatur gehalten. In Anwesenheit von primärem Phosphat ist 5 mal (54,8 mg Maltose) mehr Maltose gebildet worden als in Gegenwart von sekundärem Phosphat (11,0 mg Maltose). Wirken Salz und Veränderung des

Tabelle 1. Speichel.

		mg Maltose	% vom Kontroll-versuch	mg Maltose	% vom Kontroll-versuch	mg Maltose	% vom Kontroll-versuch
Kontrollversuch		68,5	100	68,5	100	78,1	100
Na_2SO_4	0,25 is.	67,1	98	68,5	100	78,1	100
	0,5	66,5	97	67,8	99	76,0	97
	1,0	67,1	96	67,1	98	74,7	96
	2,0	60,3	88	65,7	96	73.3	94
	4,0	61,6	90	62,3	91	66,4	85
Na-Acetat	0,25 is.	63,0	92	69,2	101	72,6	93
	0,5	59,6	87	63,0	92	72,0	92
	1,0	54,1	79	57,5	84	63,0	81
	2,0	45,2	66	44,5	65	54,1	69
	4,0	35,6	52	31,5	46	46,6	60
Na-Phosph.	0,25 is.	64,4	94	65,7	96	76,0	97
	0,5	61,6	90	63,0	92	74,0	95
	1,0	20,6	30	24,7	36	56,9	73
	2,0	11,0	16	10,3	15	29,5	38
	4,0	8,9	13	6,8	10	26,7	34
Na-Tartrat	0,25 is.	70,5	103	73,3	107	72,6	93
	0,5	70,0	102	71,3	104	73,4	94
	1,0	68,5	100	69,9	102	73,4	94
	2,0	67,8	99	69,2	101	72,0	92
	4,0	66,5	97	63,8	93	71,2	91
NaCl	0,25 is.	67,2	98	68,5	100	85,0	109
	0,5	65,1	95	65,7	96	82,9	106
	1,0	64,4	94	62,4	91	82,2	105
	2,0	63,0	92	56,9	83	81,5	104
	4,0	61,0	89	54,8	80	78,8	101
Na J	0,25 is.	68,5	100	64,4	94	79,5	102
	0,5	58,3	85	53,5	78	75,4	96
	1,0	55,5	81	52.1	76	76,0	97
	2,0	50,7	74	46,6	68	74,0	95
	4,0	48,0	70	41,8	61	69,9	89

Säuregrades gleichzeitig auf den Stärkeabbau ein, so zeigt sich, daß die Wirkungsrichtung bei Verwendung von primärem und sekundärem Phosphat sich umkehrt. In saurem Milieu wird der Stärkeabbau durch Neutralsalze verzögert und in alkalischem Milieu durch Neutralsalze ganz erheblich gesteigert. Für die ein-

Tabelle 2. Speichel.

		prim. Phosphat		sekund. Phosphat	
		mg Maltose	% vom Kontroll-versuch	mg Maltose	% vom Kontroll-versuch
Kontrollversuch		54,8	100	11,0	100
Na_2SO_4	0,25 is.	51,4	94	41,1	372
	0,5	28,8	51	47,2	424
	1,0	15,0	27	51,4	466
	2,0	7.5	14	54,0	491
	4,0	4,8	9	50,0	454
Na-Acetat	0,25 is.	55,5	101	13,7	125
	0,5	56,1	104	13,0	118
	1,0	53,4	97	14,4	131
	2,0	51,4	94	16,4	149
	4,0	46,6	85	17,1	155
Na-Tartrat	0,25 is.	54,1	99	19,2	175
	0,5	52,7	96	17,1	155
	1,0	50,7	92	23,3	212
	2,0	48,6	89	30,8	280
	4,0	47,2	86	38,4	349
NaCl	0,25 is.	58,1	106	50,0	454
	0,5	57,5	105	47,2	429
	1,0	54,8	100	46,6	424
	2,0	49,3	90	46,6	424
	4,0	37,0	68	45,2	410
Na J	0,25 is.	26,0	47	28,8	262
	0,5	20,5	37	30,8	280
	1,0	18,5	34	32,9	299
	2,0	7,5	14	31,5	286
	4,0	4,8	9	28,8	262

zelnen Salze ergeben sich dabei erhebliche Unterschiede. In saurer Lösung (primäres Phosphat) hemmen besonders das Sulfat und Jodid den Stärkeabbau. In vierfach isotoner Lösung beträgt die Maltosebildung bei beiden Salzen nur noch 9 % des Kontrollversuchs, in zweifach isotoner Lösung 14 %, in einfach isotoner Lösung 27 bzw. 34 %. Natriumsulfat und Natriumjodid wirken in diesem Konzentrationsbereich mithin gleich stark

hemmend auf die Zuckerbildung ein. In 0,25- und 0,5-fach isotoner Lösung unterscheiden sie sich hinsichtlich ihrer Wirkungsstärke beträchtlich. 0,25-fach isoton Natriumsulfat ist fast wirkungslos, die entsprechende Konzentration Natriumjodid hemmt über 50 %. Die übrigen Salze sind in saurer Lösung nur wenig wirksam, das gilt für Natriumacetat, -tartrat und -chlorid in gleicher Weise. Beim Chlorid tritt sogar eine leichte Förderung in 0,25- und 0,5-fach isotoner Lösung auf.

In alkalischer Lösung wird die Wirksamkeit der Diastase besonders stark durch Sulfat und Chlorid gesteigert, durchschnittlich um über 400 %; beim Natriumsulfat nimmt die Wirkung mit ansteigender Konzentration zu bis zu einem Optimum bei zweifacher Isotonie. Beim Chlorid nimmt die Wirkung mit der Konzentration ab. Aehnlich wie durch Sulfat wird auch durch Tartrat der Stärkeabbau mit ansteigender Konzentration gefördert. Die Unterschiede sind gerade hier sehr stark; die Steigerung durch 0,25 isoton. Tartrat beträgt 75%, durch vierfach isoton Tartrat 249%, also mehr als das dreifache als bei 0,25 isotoner Konzentration. Auch die Steigerungen durch Jodid sind erheblich, das Optimum der Wirkung tritt durch isotone Natriumjodidlösung auf mit einer Steigerung um 200 %. Verhältnismäßig wenig wirksam ist allein das Acetat, die maximale Steigerung beträgt bei der höchsten Konzentration nur 55 %.

Versuchsserie II.

In den Pankreatinversuchen (Tabelle 3 und 4) betrug die Konzentration des Pankreatins 0,025 auf Hundert, die Versuchsdauer 2 Std.

Die Versuchsergebnisse entsprechen mit geringen Einschränkungen den an der Speicheldiastase erhobenen Befunden. In neutraler Lösung (Tabelle 3) wird auch hier durch Phosphat und besonders durch Jodid der Stärkeabbau verzögert. Das Jodid hemmt bereits in 0,5-fach isotoner Lösung sehr stark, das Phosphat dagegen erst von 2-fach isotoner Lösung an. Stärkere Verdünnungen beider Salze sind unwirksam. Die Hemmungen betragen beim Phoshpat bis zu 80%, beim Jodid bis zu 70%. Auch durch Acetat wird die Pankreasdiastase stark geschädigt. Die Zuckerbildung beträgt in vierfach isotoner Lösung ungefähr die Hälfte des Kontrollversuchs. Tartrat wirkt besonders in stärkeren Verdünnungen fördernd, desgleichen Chlorid. Das gleiche Verhalten finden wir auch bei der Speicheldiastase angedeutet.

Tabelle 3. Pankreatin.

		mg Maltose	% vom Kontroll-versuch	mg Maltose	% vom Kontroll-versuch	mg Maltose	% vom Kontroll-versuch
Kontrollvers.		57,5	100	55,5	100	63,6	100
Na_2SO_4	0,25 is.	55,5	97	56,9	102	74,0	116
	0,5	53,4	93	54,9	99	70,0	110
	1,0	54,1	94	54,1	98	67,8	107
	2,0	51,4	89	53,4	96	61,6	97
	4,0	43,8	76	50,6	91	54,8	86
Na-Acetat	0,25 is.	52,7	92	53,4	96	65,1	102
	0,5	49,4	86	50,0	90	60,3	95
	1,0	44,5	77	43,8	79	58,2	91
	2,0	37,0	64	37,0	67	45,9	72
	4,0	31,5	55	30,0	54	41,8	66
Na-Phosph.	0,25 is.	54,9	95	55,5	100	68,5	108
	0,5	55,5	96	55,5	100	65,8	103
	1,0	55,5	96	56,9	102	56,9	89
	2,0	19,2	33	15,8	29	39,7	62
	4,0	15,1	26	11,0	20	27,4	43
Na-Tartrat	0,25 is.	66,5	115	67,1	121	71,3	112
	0,5	61,6	107	64,4	116	70,0	110
	1,0	65,1	113	63,7	115	70,0	110
	2,0	50,0	87	63,0	113	57,5	90
	4,0	50,0	87	61,6	111	52,0	82
NaCl	0,25 is.	57,5	100	59,6	107	78,1	123
	0,5	57,5	100	56,9	103	76,9	121
	1,0	54,8	95	56,1	101	76,1	120
	2,0	55,5	96	55,5	100	73,4	115
	4,0	53,4	93	54,8	99	75,5	119
Na J	0,25 is.	57,5	100	55.5	100	65,8	103
	0,5	43,9	76	43,9	63	60,3	95
	1,0	30,0	52	32,9	59	52,8	83
	2,0	24,0	42	23,3	42	44,5	70
	4,0	17,1	30	21,2	38	34,3	54

Die Jodidwirkung ist bei der Speichel- und Pankreasdiastase im Prinzip gleich, mit der Einschränkung, daß die Pankreasdiastase stärker geschädigt wird als die Speicheldiastase.

In sauren und alkalischen Lösungen (Tabelle 4) verhält sich die Pankreasamylase den Neutralsalzen gegenüber wie die

Speichelamylase. Unwirksam in Gegenwart von primärem Phosphat sind Acetat, Tartrat und Chlorid. Das Sulfat und Jodid bewirken mit ansteigender Konzentration eine sehr erhebliche Einschränkung der Zuckerbildung, wie wir das auch für die Speicheldiastase gesehen haben. In alkalischem Milieu wirken am stärksten Chlorid und Jodid, weniger Acetat und Tartrat.

Tabelle 4. Pankreatin.

		prim. Phosphat		sekund. Phosphat	
		mg Maltose	% vom Kontroll-versuch	mg Maltose	% vom Kontroll-versuch
Kontrollversuch		61,0	100	9,6	100
Na_2SO_4	0,25 is.	62,4	102	41,1	428
	0,5	43,9	72	48,0	500
	1,0	38,4	63	52,8	550
	2,0	19,2	31	57,6	600
	4,0	11,6	19	57,6	600
Na-Acetat	0,25 is.	62,4	102	17,8	185
	0,5	63,1	103	13,7	146
	1,0	61,7	101	15,1	157
	2,0	61,7	101	15,1	157
	4,0	58,2	95	18,5	193
Na-Tartrat	0,25 is.	62,4	102	10,3	107
	0,5	61,0	100	19,2	200
	1,0	61,7	101	23,3	243
	2,0	61,0	100	24,0	250
	4,0	60,4	99	37,0	385
NaCl	0,25 is.	64,4	105	58,2	607
	0,5	63,7	104	58,2	607
	1,0	61,0	100	59,0	615
	2,0	61,0	100	58,2	607
	4,0	58,2	95	59,6	621
Na J	0,25 is.	33,6	55	40,4	420
	0,5	31,5	52	48,0	500
	1,0	16,4	27	48,0	500
	2,0	11,0	18	44,6	465
	4,0	4,8	8	45,2	434

Versuchsserie III.

Tabelle 5 und 6.

Die bisher beschriebenen Versuche zeitigten als bemerkenswerteste Tatsache die Feststellung, daß bei den tierischen Diastasen die Speichel- und die Pankreasdiastase in ihrer Beeinflußbarkeit durch Salze sich gleich verhalten. Die nunmehr zu beschreibenden Versuche zeigen besonders eindrucksvoll, daß die pflanzliche Diastase (Malz) sich gänzlich abweichend verhält.

In neutraler Lösung (Tabelle 5) setzen alle Neutralsalze mit ansteigender Konzentration die Wirksamkeit der Malzdiastase herab. In 0,25-fach isotoner Lösung sind alle Salze noch ohne erkennbaren Einfluß, aber bereits bei der doppelten Konzentration setzt beim Sulfat, Tartrat und Chlorid eine sehr starke Hemmung ein. In isotonischen Lösungen ist beim Jodid die geringste Wirkung feststellbar, wie überhaupt Jodid die Malzdiastase von allen untersuchten Salzen am wenigsten in ihrer Wirkung herabsetzt, während es die beiden tierischen Diastasen besonders stark schädigt. Wie in den Speichel- und Pankreatinversuchen ist die Hemmung umso geringer, je stärker der Stärkeabbau fortgeschritten ist. Gegenüber den Versuchen mit tierischen Diastasen treten erhebliche Unterschiede auf, die sich besonders beim Tartrat und Chlorid bemerkbar machen. Natriumchlorid hemmt in den Malzdiastaseversuchen sehr stark, ist in den Speichel- und Pankreasversuchen ohne Einwirkung; das gleiche gilt für Tartrat und Sulfat.

Besonders stark kommen die Unterschiede in der Salzwirkung zwischen tierischer und pflanzlicher Diastase heraus, wenn der Zuckerabbau in saurer bzw. alkalischer Lösung vor sich geht. In primären Phosphatlösungen sind in 0,25 fach isotoner Lösung sämtliche Salze unwirksam, desgleichen in 0,25 fach isotoner Lösung, mit Ausnahme von Natriumchlorid, das die Zuckerbildung bereits um über 40 % verzögert. In isotonen Lösungen sind Sulfat, Acetat, Tartrat noch ohne Einwirkung, desgleichen Tartrat in zweifach isotoner Lösung. In höheren Konzentrationen hemmen alle Salze sehr stark, besonders Natriumsulfat, Chlorid und Jodid. Am geringsten sind die Hemmungen beim Tartrat. In den entsprechenden Speichel- und Pankreatinversuchen sind Acetat, Tartrat und Chlorid in sämtlichen Konzentrationen unwirksam. Besonders deutlich zeigt sich der Unterschied zwischen tierischer und pflanzlicher Diastase bei der Kochsalzwirkung; durch Kochsalz wird die Zuckerbildung durch Malzdiastase auf sehr niedrige Werte heruntergedrückt. Auffallend ist, daß Jodid auf die Malz-

diastase erheblich schwächer einwirkt als auf die tierische Diastase. In isotoner Lösung beträgt z. B. die Hemmung der Malzdiastase 24 %, bei der Speicheldiastase 66 % und bei der Pankreasdiastase 73 %.

Tabelle 5. Diastase.

		mg Maltose	% vom Kontroll-versuch	mg Maltose	% vom Kontroll-versuch	mg Maltose	% vom Kontroll-versuch
Kontrollversuch		51,5	100	50,0	100	58,2	100
Na_2SO_4	0,25 is.	54,1	105	59,6	119	65,1	112
	0,5	29,5	57	34,3	69	50,6	87
	1,0	26,0	50	33,6	67	43,1	74
	2,0	16,5	32	17,8	36	31,5	54
	4,0	15,1	29	16,5	33	31,5	54
Na-Acetat	0,25 is.	48,6	94	50,0	100	59,6	102
	0,5	45,9	89	41,1	82	53,5	92
	1,0	13,7	27	20,6	41	43,2	74
	2,0	11,0	21	17,1	34	32,2	55
	4,0	10,3	20	11,6	23	26,0	45
Na-Phosph.	0,25 is.	50,7	99	49,3	99	58,3	100
	0,5	49,4	96	45,3	91	56,2	97
	1,0	31,5	61	29,5	59	45,3	78
	2,0	13,7	27	15,0	30	30,8	53
	4,0	10,3	20	11,0	22	27,4	47
Na-Tartrat	0,25 is.	42,5	83	45,3	91	54,1	93
	0,5	20,5	40	19,9	40	48,0	82
	1,0	15,1	29	13,0	26	30,2	52
	2,0	12,3	14	12,7	25	26,7	46
	4,0	11,0	21	11,7	23	26,1	45
NaCl	0,25 is.	49,4	96	50.8	102	56,9	98
	0,5	34,3	66	38,4	77	46,6	80
	1,0	19,9	39	27,4	55	38,4	66
	2,0	16,5	32	17,8	36	30,2	52
	4,0	16,5	32	14,4	29	26,7	46
Na J	0,25 is.	52,8	102	50,7	101	61,6	106
	0,5	48,0	93	46,6	93	53,5	92
	1,0	45,2	88	42,5	85	50,7	87
	2,0	39,0	76	39,8	80	50,0	86
	4,0	34,3	67	35,6	71	48,4	83

Tabelle 6. Diastase.

	prim. Phosphat		sekund. Phosphat	
	mg Maltose	% vom Kontroll-versuch	mg Maltose	% vom Kontroll-versuch
Kontrollversuch	72,0	100	23,3	100
Na_2SO_4 0,25 is.	70,6	98	42,5	182
0,5	72,0	100	50,7	218
1,0	72,0	100	50,7	218
2,0	40,4	56	13,7	59
4,0	14,8	21	12,3	53
Na- 0,25 is.	69,9	97	30,1	130
Acetat 0,5	69,2	96	29,4	126
1,0	67,9	94	28,8	124
2,0	45,9	64	24,6	105
4,0	28,8	40	16,4	70
Na- 0,25 is.	70,6	98	29,4	126
Tartrat 0,5	72,0	100	32,9	141
1,0	69,9	97	31,5	135
2,0	68,5	95	34,2	147
4,0	52,7	73	40,4	173
NaCl 0,25 is.	71,2	99	24,6	106
0,5	40,4	56	25,3	108
1,0	27,4	38	25,3	108
2,0	24,6	34	21,9	94
4,0	17,8	25	11,6	50
Na J 0,25 is.	71,3	99	24,6	105
0,5	68,5	95	18,5	80
1,0	54,9	76	17,8	76
2,0	29,4	41	11,0	47
4,0	8,2	11	10,3	44

Wesentlich eindrucksvoller zeigt sich das unterschiedliche Verhalten der Diastasen bei der Maltosebildung in sekundärer Phosphatlösung. Die tierischen Diastasen werden selbst durch hohe Konzentrationen in ihrer Wirksamkeit durch die Neutralsalze stark angeregt. Auch bei der Malzdiastase beobachten wir den fördernden Einfluß der Salze, nicht aber in den höheren Konzentrationen. In vierfach isotoner Lösung setzen alle Salze mit Ausnahme von Tartrat die Zuckerbildung stark herab und

zwar um 50 %, beim Acetat um 30 %. Die stärkste Förderungswirkung tritt durch Sulfat auf, das Optimum liegt bei 0,5 facher Isotonie mit einer Steigerung von 118 %. Bereits bei 2 facher Isotonie ist die Zuckerbildung um 41 % verzögert. Die Förderungswirkungen von Acetat und Tartrat sind erheblich schwächer als bei den tierischen Diastasen. Gewaltig ist die Verschiedenheit der Diastasen unter der Natriumchloridwirkung. Während die Speicheldiastase um über 300 % und die Pankreasdiastase um über 500 % in ihrer Wirksamkeit angeregt werden, wird die Malzdiastase nicht merklich beeinflußt. In vierfach isotoner Lösung beträgt die Zuckerbildung aus Stärke durch Pankreatin das 6 fache des Kontrollversuches, durch Malzdiastase dagegen nur die Hälfte von Natriumchlorid und Natriumsulfat.

Unsere Versuche zeigen, daß die tierische Diastase und die pflanzliche Diastase nicht miteinander identisch sein können, was von vielen Autoren angenommen wird.

Besprechung der Ergebnisse.

Bekanntlich sind die tierischen Diastasen bei völliger Abwesenheit von Salzen unwirksam. Das wirksame Ferment wird als eine Verbindung der organischen Substanzamylase mit Neutralsalzen aufgefaßt, die Neutralsalze sind also ein „Proferment", ein Zymogen der Diastase. Die einzelnen Komplexe sind verschiedene Fermente, da sie ein verschiedenes Optimum der Wasserstoffionenkonzentration haben. Die Aktivierung zeigt sich bei optimalem p^H mehr aber noch bei schwacher Alkalität. Für die Wirksamkeit der Doppelverbindungen aus Diastase mit Salzen soll das Anion des betreffenden Salzes maßgebend sein, kaum das Kation. Die Steigerung der Wirksamkeit der Diastase ist nach Wohlgemuth [6]) für alle Chloride der Alkalien und Erdalkalien gleich, sodaß eine spezifische Wirkung nur des Cl-Ions angenommen wurde. Nach Untersuchungen von Haack, [7]) die den Einfluß der Erdalkalichloride auf die Zuckerbildung aus Stärke untersuchte, ist diese Annahme nicht mehr haltbar, da für die einzelnen Chloride sehr erhebliche Unterschiede in der Wirkungsstärke bestehen. Die Versuche zeigen, daß die Dextrinbildung, die Wohlgemuth mit seiner von ihm angegebenen Jodfärbungsmethode untersuchte, durch die Chloride in der gleichen Weise verändert wird, nicht aber der Ab-

[6]) Wohlgemuth: Biochem. Z. 9, 10, 1908.
[7]) Haack: Inaugural-Dissertation, Münster 1935.

bau der Dextrine zu Maltose, die Haack in ihrer Arbeit quantitativ ermittelte. Bei kritischer Durchsicht des Schrifttums erklären sich die z. T. entgegengesetzten Befunde der einzelnen Autoren ohne weiteres dadurch, daß die Versuchstechnik verschieden war. Nur die Bestimmung des Endproduktes des Stärkeabbaus, der Maltose, gibt uns Auskunft über die Verwertbarkeit der Stärke und nicht die Bestimmung von Zwischenprodukten. So decken sich denn auch unsere Versuchsergebnisse mit den Befunden der Autoren, die die Maltosebildung als Maß für die Größe des Stärkeabbaus benutzten. Diese Untersuchungen liegen meist schon lange zurück. In Betracht kommen vor allem die Arbeiten von Ringer und van Trigt[8]) und eine Arbeit von Bang.[9]) Phosphat und Acetat hemmen nach Ringer die Ptyalinwirkung, desgleichen nach Bang das Phosphat. Weiterhin stellte Bang fest, daß Natriumchlorid die Zuckerbildung aus Stärke in sekundärer Phosphatlösung erheblich steigert, nicht aber in primärer Phosphatlösung. Die Bang'schen Versuche die an Speicheldiastase ausgeführt wurden, entsprechen vollkommen unseren Befunden (Tabelle 2). Die Pankreasamylase verhält sich in unseren Versuchen wie die Speichelamylase.

Die Natriumchloridwirkung bei Gegenwart von sekundärem Phosphat wird durch die große Affinität der Diastase zum Cl-Ion erklärt. Sulfat, Acetat und Phosphat sollen nur eine geringe Affinität zur Malzdiastase aufweisen. In Salzgemischen muß nach dem Massenwirkungsgesetz eine Verteilung der Diastase unter die verschiedenen Salzarten bzw. Anionarten auftreten, wobei die verschieden hohen Affinitäten und die Konzentrationen der Salze zu berücksichtigen sind. Es reagieren hier Natriumchlorid und Natriumphosphat mit der Diastase; das Chlorid geht an die Diastase infolge seiner größeren Affinität als das Phosphat und schützt die Diastase gegen den Zerfall durch die alkalische Reaktion des sekundären Phosphates. Nach Bang nimmt die Stärkeverzuckerung durch Speichel bereits bei neutraler Reaktion ab und wird mit wachsender Alkalität allmählich gleich Null. Nach Ringer ist die diastatische Kraft des Speichels bereits bei einem ph von 7,5 = 0. Auch in unseren Versuchen ist die Zuckerbildung nur sehr gering. Nach unseren Untersuchungen übt neben dem Chlorid vor allem das Sulfat eine schützende Wirkung auf die Speichel- und Pankreasdiastase aus; es folgen das Jodid und Tartrat, während der Acetateinfluß nur gering ist. Natriumchlorid ist allen Salzen an Wirkung überlegen, weil das

[8]) Ringer u. van Trigt: Z. f. physiol. Chem. 82, 484, 1912.
[9]) Bang: Biochem. Z. 32, 417, 1911.

Optimum bereits bei 0,25 isotoner Lösung auftritt, beim Sulfat und Tartrat dagegen erst bei hoher Konzentration. Wir dürfen aus unseren Versuchen folgern, daß die Affinität der Salze in folgender Reihenfolge abnimmt: Chlorid > Sulfat > Jodid > Tartrat > Acetat. Diese Beziehungen gelten für die Speichel- und Pankreasdiastase, nicht aber für die Malzdiastase. Die Reihenfolge lautet hier Sulfat > Tartrat > Acetat > Chlorid > Jodid. Besonders bei höheren Konzentrationen (auch beim Sulfat) kommt zu der Hemmung durch die alkalische Reaktion noch die Schädigungen durch die hypertonische Lösung, die besonders stark sind beim Jodid und Sulfat. Wie aus unseren Versuchen ohne primäres und sekundäres Phosphat hervorgeht, hemmen hypertone Lösungen aller Salze die Zuckerbildung aus Stärke mehr oder weniger stark, besonders stark Acetat, Phosphat und Jodid, nur wenig Sulfat, Tartrat und Chlorid. Nur hin und wieder tritt eine leichte Förderung auf. Alle diese Versuche wurden bei neutraler Reaktion angestellt. Lassen wir die Neutralsalze in Gegenwart von primärem Phosphat auf die Diastase einwirken, so ergibt sich ein vollkommen anderes Wirkungsbild als in den entsprechenden Versuchen in sekundärer Phosphatlösung. Die Hemmungswirkung des primären Phosphates, die gegenüber dem sekundären Phosphat nur gering ist, wird durch die Salze nicht aufgehoben, sondern und, das gilt besonders für das Sulfat und Jodid, erheblich verstärkt. In saurer Lösung müssen demnach gänzlich andere Wechselwirkungen zwischen den einzelnen Salzen auftreten wie in alkalischer Lösung. Einen hemmenden Einfluß der Phosphate gegenüber salzfreier Lösungen untersucht bei ph = 7,07 stellte Ringer fest. Auch in unseren Versuchen zeigt sich gleichfalls die starke Hemmung durch Phosphat (ph = 7,0). Phosphatmischungen hemmen also die Fermentwirkung, wie es auch für das Acetat und Jodid der Fall ist. Nach Willstätter, Waldschmidt-Leitz und Hesse[10]) ist der Einfluß der Phosphationen noch zweifelhaft, da sie bei derselben Wasserstoffzahl mit Phosphat und Acetat gleich große Amylasewirkungen erzielten. Acetat und Phosphat dürfen nach unseren Versuchen nicht miteinander verglichen werden, weil auch das Acetat ähnliche Hemmungswirkungen zeigt wie das Phosphat. Erwähnt sei hier, daß Willstätter und seine Schüler die Maltose quantitativ mit Hypojodit bestimmten. Der hemmende Einfluß des Phosphations ist durch unsere Versuche wie auch die von Ringer einwandfrei festgestellt. Die Ergebnisse von an-

[10]) Willstätter, Waldschmidt-Leitz und Hesse: Hoppe-Seyler: Zeitschrift f. physiol. Chem. Bd. 126, S. 143, 1923.

deren Autoren, die nach der Wohlgemuth'schen Methode arbeiteten und z. T. zu anderen Feststellungen führten, können nicht als Gegenbeweis angesehen werden, da die Wohlgemuth'sche Methode nur grobe Schätzungen zuläßt und keine zuverlässige Bestimmungsmethode ist. So finden denn Michaelis und Pechstein[11]) ähnlich wie Willstätter und seine Schüler Phosphat und Acetat bei gleichem ph ohne Einfluß, während nach Wohlgemuth Phosphat und Acetat hemmen. Im Prinzip mit unseren Versuchen übereinstimmen die Befunde von Hahn und Harpuder.[12]) In alkalischer Lösung fördern die Neutralsalze die Diastasewirkung mit Ausnahme von Sulfat. In saurer Lösung dagegen hemmen die Salze mit Ausnahme von niedrigen Konzentrationen. Eine Erklärung für die gleichzeitige Salz-Phosphatwirkung geben die Autoren nicht. Zusammenfassend läßt sich sagen, daß auch heute noch alle Erklärungsmöglichkeiten rein spekulativer Natur sind.

[11]) Michaelis u. Pechstein: Biochem. Z. 59, 77, 1914.
[12]) Hahn u. Harpuder: Biochem. Z. 71, 282, 1920.

Zusammenfassung.

Es wurde der Einfluß einiger Neutralsalze der Hofmeister'schen Reihe — Natriumsulfat, Natriumacetat, Natriumphosphat, Natriumtartrat, Natriumchlorid, Natriumjodid — auf die Zuckerbildung aus Stärke durch einige diastatische Fermente untersucht. Die Wirkungsstärke und auch die Wirkungsrichtung der Neutralsalze ist sehr stark abhängig vom Milieu, d. h. vom Säuregrad der untersuchten Lösung. In gleicher osmotischer Lösung und bei ph = 7,0 hemmen alle Neutralsalze mit ansteigender Konzentration den Stärkeabbau. Die Speichel- und Pankreasamylase verhalten sich gleich, während die Beeinflußbarkeit der Malzdiastase vollkommen abweicht. Die tierischen Diastasen werden besonders stark durch Acetat, Phosphat und Jodid in ihrer Wirksamkeit gehemmt; Sulfat, Chlorid und Tartrat sind nur schwach wirksam. Die Malzdiastase wird durch alle Neutralsalze stark geschädigt; am wenigsten durch Jodid. In alkalischer Lösung aktivieren alle Neutralsalze die Wirksamkeit der tierischen Diastasen, besonders stark Chlorid und Sulfat, nur wenig das Acetat. Die Malzdiastase wird durch Sulfat, Acetat und Tartrat aktiviert, nicht aber durch Chlorid und Jodid. Höhere Konzentrationen der Neutralsalze mit Ausnahme von Tartrat setzen den Stärkeabbau in alkalischer Lösung weiter herab, während bei den tierischen Diastasen eine starke Förderung auftritt. In saurer Lösung (primäres Phosphat) tritt kaum eine Aktivierung der Diastasen ein. Acetat, Tartrat und Chlorid sind bei den tierischen Diastasen vollkommen unwirksam, Sulfat und Jodid vermindern die Menge der gebildeten Maltose noch weiter. Die Malzdiastase wird in saurer Lösung durch Neutralsalze stark in ihrer Wirksamkeit abgeschwächt, besonders stark durch Chlorid und Jodid. Die tierischen Diastasen und die Malzdiastase sind also nicht identisch.

Lebenslauf.

Am 15. Mai 1911 wurde ich als Sohn des 1925 verstorbenen Gastwirts August Folsche in Ledde Kr. Tecklenburg geboren. Vom 6. Lebensjahre an besuchte ich 4 Jahre die Volksschule meines Heimatortes. Anschließend ging ich zur Rektoratschule in Tecklenburg bis Ostern 1924, um dann dortselbst die Aufbauschule zu besuchen, die ich am 19. März 1931 mit dem Reifezeugnis verließ. Ab Ostern 1931 studierte ich Zahnheilkunde in Münster und Greifswald. In Münster bestand ich im Wintersemester 1932/33 die zahnärztliche Vorprüfung und am 23. Januar 1935 das Staatsexamen.